

# ШТАММЫ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ПРОДУЦИРУЮЩИЕ БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ РАСШИРЕННОГО СПЕКТРА И МЕТАЛЛО- β-ЛАКТАМАЗУ NDM-1, ВЫДЕЛЕННЫЕ В СТАЦИОНАРАХ В СТРАНАХ БАЛТИЙСКОГО РЕГИОНА

С.А. Егорова<sup>1</sup>, Л.А. Кафтырева<sup>1</sup>, Л.В. Липская<sup>2</sup>, И.Б. Коноваленко<sup>3</sup>,  
М.Ф. Пясетская<sup>4</sup>, Т.С. Курчикова<sup>5</sup>, Н.Б. Ведерникова<sup>6</sup>, О.Т. Морозова<sup>7</sup>,  
М.В. Смирнова<sup>8</sup>, Л.Н. Попенко<sup>9</sup>, М.И. Любушкина<sup>9</sup>, Ю.А. Савочкина<sup>10</sup>,  
М.А. Макарова<sup>1</sup>, Л.В. Сужаева<sup>1</sup>, Ю.В. Останкова<sup>1</sup>, М.Н. Иванова<sup>11</sup>,  
А.М. Павелкович<sup>11</sup>, П. Наабер<sup>12</sup>, Э. Сепп<sup>12</sup>, С. Кыльялг<sup>12</sup>,  
И. Мицюлявичене<sup>13</sup>, А. Балодэ<sup>14</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Городская клиническая больница № 40, Санкт-Петербург

<sup>3</sup>Городская клиническая больница № 31, Санкт-Петербург

<sup>4</sup>Детская городская клиническая больница № 5, Санкт-Петербург

<sup>5</sup>Детская городская больница № 17, Санкт-Петербург

<sup>6</sup>Городская больница Святого Великомученика Георгия, Санкт-Петербург

<sup>7</sup>Детская городская больница № 1, Санкт-Петербург

<sup>8</sup>Городская Мариинская больница, Санкт-Петербург

<sup>9</sup>НИИ скорой помощи имени И.И. Джанелидзе, Санкт-Петербург

<sup>10</sup>ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии, Москва

<sup>11</sup>Восточная Центральная больница, Таллинн, Эстония

<sup>12</sup>Университет Тарту, Тарту, Эстония

<sup>13</sup>Вильнюсская городская клиническая больница, Вильнюс, Литва

<sup>14</sup>Университетская клиническая больница им. Паула Страдыня, Рига, Латвия

**Резюме.** Изучали распространенность штаммов, устойчивых к цефалоспорином расширенного спектра и карбапенемам, среди *K. pneumoniae* и *E. coli*, выделенных из клинического материала пациентов семи стационаров Санкт-Петербурга в период с января по май 2012 г. Доля штаммов, устойчивых к цефалоспорином, колебалась в различных стационарах: *E. coli* — от 7,8 до 50%, *K. pneumoniae* — от 25,4 до 88,4%. Устойчивость была обусловлена продукцией бета-лактамаз расширенного спектра семейства CTX-M, которые относились главным образом к группе CTX-M-1, а также CTX-M-2 и CTX-M-9. В трех стационарах выявили 22 полирезистентных штамма *K. pneumoniae*, устойчивых к карбапенемам. Метод MALDI-TOF MS показал, что резистентность к карбапенемам у всех штаммов была обусловлена продукцией карбапенемаз, которые согласно результатам тестов ROSCO Diagnostica относились к классу металло-β-лактамаз. У всех изученных штаммов выявлен ген металло-β-лактамазы New Delhi metallo-β-lactamase (*bla*NDM-1). Результаты проведенных исследований показали, что в странах Балтийского региона (включая Россию, Санкт-Петербург) ведущим механизмом резистентности к цефалоспорином штаммов *E. coli*

поступила в редакцию 15.02.2013  
отправлена на доработку 17.02.2013  
принята к печати 06.03.2013

© Егорова С.А. и соавт., 2013

#### Адрес для переписки:

Егорова Светлана Александровна,  
к.м.н., научный сотрудник  
лаборатории кишечных инфекций  
ФБУН НИИЭМ имени Пастера

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,  
ФБУН НИИЭМ имени Пастера.  
Тел.: (812) 232-48-83 (служебн.);  
+7 911 959-95-19 (моб.).  
E-mail: egorova72@mail.ru

и *K. pneumoniae*, выделенных в стационарах, является продукция CTX-M-1. Впервые в России выделены штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие металло-β-лактамазу NDM-1, причем одновременно в нескольких стационарах Санкт-Петербурга.

**Ключевые слова:** *K. pneumoniae*, *E. coli*, резистентность, CTX-M, NDM-1.

## ENTEROBACTERIACAE, PRODUCING ESBLs AND METALLO-β-LACTAMASE NDM-1, ISOLATED IN HOSPITALS OF BALTIC REGION COUNTRIES

Egorova S.A., Kaftyreva L.A., Lipskaya L.V., Konovalenko I.B., Pyasetskaya M.F., Kurchikova T.S., Vedernikova N.B., Morozova O.T., Smirnova M.V., Popenko L.N., Lubushkina M.I., Savochkina J.A., Makarova M.A., Suzhaeva L.V., Ostankova J.V., Ivanova M.N., Pavelkovich A.M., Naaber P., Sepp E., Kõljalg S., Miculevičiene J., Balode A.

**Abstract.** We studied the prevalence of *K. pneumoniae* and *E. coli* resistance to extended spectrum cephalosporins and carbapenems, isolated from patients of eight hospitals in St-Petersburg from January to May, 2012. Prevalence of cephalosporin resistant isolates varied in different hospitals: *E. coli* – from 7,8 to 50%, *K. pneumoniae* – from 25,4 to 88,4%. Isolates produced extended spectrum beta-lactamases CTX-M, mainly CTX-M-1, also CTX-M-2 and CTX-M-9. Twenty two carbapenem-resistant *K. pneumoniae* strains (also resistant to other antimicrobials) were isolated in three hospitals. MALDI-TOF MS showed that carbapenem resistance was caused by carbapenemase. Carbapenemases of all isolates belonged to metallo-β-lactamases according to results of the ROSCO Diagnostica tests. The gene coding production of New Delhi metallo-β-lactamase (*bla*NDM-1) were detected in all strains. Our data confirmed that the main cephalosporin resistance mechanism of *E. coli* и *K. pneumoniae* in Baltic region (including Russia, St-Petersburg) is CTX-M-1 production. For the first time in Russia *K. pneumoniae* strains producing metallo-β-lactamases NDM-1 were isolated in several hospitals of St-Petersburg. (*Infekc. immun.*, 2013, vol. 3, N 1, p. 29–36)

**Key words:** *K. pneumoniae*, *E. coli*, resistance, CTX-M, NDM-1.

## Введение

В современных условиях проблема лекарственной устойчивости микроорганизмов приобрела глобальный характер. Полирезистентные штаммы являются причиной возникновения тяжелых форм внутрибольничных гнойно-септических инфекций, а также разнообразных инфекционных заболеваний. В борьбе с антибиотикорезистентностью основным направлением является организация системы мониторинга циркуляции резистентных микроорганизмов и генов, детерминирующих устойчивость к антимикробным препаратам (АМП). Единая стандартизированная методология определения чувствительности микроорганизмов к АМП и единые критерии интерпретации, основанные на современных знаниях о механизмах резистентности и о фармакодинамике/фармакокинетики АМП, позволят улучшить качество исследований и проводить эффективный мониторинг резистентности не только на уровне отдельного стационара, но и региона или страны. В настоящее время требования к организации микробиологического мониторинга в учреждениях здравоохранения изложены в СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность».

В Российской Федерации проводятся научные исследования, результаты которых отражают ситуацию по распространению резистентности к АМП у различных микроорганизмов на территориях практически всех федераль-

ных округов и показывают, что штаммы энтеробактерий, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), карбапенем-резистентных *P. aeruginosa* и *A. baumannii* на протяжении многих лет циркулируют в российских стационарах, особенно в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Такие микроорганизмы способны вызывать у пациентов тяжелые состояния, часто являющиеся причиной продления срока госпитализации, повышения уровня летальности, а также увеличения экономических затрат на лечение. Другой стороной проблемы антибиотикорезистентности является глобальное распространение определенных полирезистентных клонов микроорганизмов, примером которого в настоящее время является ситуация с распространением резистентности к карбапенемам у *K. pneumoniae* и *E. coli*, продуцирующих металло-β-лактамазу NDM-1 (New Delhi metallo-β-lactamase). Развитие авиасообщений приводит к тому, что сегодня врач может столкнуться с пациентом, который несколько дней назад находился в стационаре в другой части света. «Международными» пациентами могут оказаться люди, эвакуированные из мест постоянного проживания в результате военных действий или природных катастроф, а также туристы, которые оказываются госпитализированными во время путешествий в результате несчастных случаев или в целях получения дешевой медицинской помощи (стоматология, офтальмология, пластическая и кардиохирургия). Госпитализация в стационары некоторых стран может быть сопряжена с риском

инфицирования полирезистентными клонами микроорганизмов, которые перемещаются вместе с пациентами из стационаров одной страны в стационары другой страны, где они ранее не циркулировали. Очевидно, что в отношении таких микроорганизмов мониторинг должен осуществляться на международном уровне.

Существуют различные международные организации, занимающиеся вопросами антибиотикорезистентности. Специалисты Санкт-Петербурга (бактериологи, эпидемиологи, инфекционисты, хирурги) являются членами BARN (Baltic Antimicrobial Resistance Net — Сеть по надзору за антибиотикорезистентностью в странах Балтийского региона), главной целью которой является противодействие распространению резистентности в странах Балтийского региона. BARN организует международные научно-практические проекты, касающиеся углубленного изучения антибиотикорезистентности.

В 2012 г. стартовал международный проект, основной целью которого являлось улучшение детекции и надзора за резистентностью, вызванной БЛРС, у штаммов *Enterobacteriaceae* в странах Балтийского региона (Эстония, Латвия, Литва и Россия, Санкт-Петербург). В задачи проекта входило внедрение единого фенотипического скрининга и алгоритма детекции бета-лактамаз, включая БЛРС и карбапенемазы, а также развитие научного сотрудничества между Россией и странами Евросоюза. В проекте участвовала 21 лаборатория из Латвии, Литвы, Эстонии и Санкт-Петербурга (лаборатории семи многопрофильных стационаров). Научное руководство проектом осуществляли научно-исследовательские учреждения: Санкт-Петербургский НИИЭМ имени Пастера, Университет Тарту и Шведский Институт по Контролю Заболеваний.

## Материалы и методы

В период с 1 января по 31 мая 2012 г. в 21 стационаре проводили скрининг штаммов *K. pneumoniae* и *E. coli*, нечувствительных (устойчивых и с промежуточной чувствительностью) к цефалоспорином расширенного спектра (ЦРС) (цефтазидиму, цефотаксиму, цефтриаксону) и карбапенемам (меропенему, имипенему), выделенных в этот период из различного клинического материала (кровь, моча, мокрота, раневое отделяемое). Повторные изоляты, выделенные от одного пациента, в исследование не включали. Штаммы выделяли и идентифицировали классическими бактериологическими методами с использованием стандартных селективных и дифференциально-диагностических сред для энтеробактерий. Чувствительность к АМП определяли согласно нормативным документам, принятым в странах-участниках, диско-

диффузионным методом (ДДМ) согласно МУК 4.12.1890-04, рекомендациям Европейского Комитета по определению чувствительности к антибиотикам (EUCAST) ([http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints)) с использованием среды Мюллера—Хинтон и дисков производства Oxoid (Великобритания). МИК имипенема определяли методом Е-тестов (BioMerieux, Франция). Интерпретацию результатов тестирования проводили согласно критериям EUCAST, 2011 г. У нечувствительных штаммов механизм резистентности — гидролиз эртапенема — выявляли методом времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) на приборе MALDI Biotyper Microflex LT (Bruker Daltonics) согласно протоколу [18]. Результат гидролиза был визуализирован и проанализирован с помощью спектрограмм. Дифференциацию различных видов бета-лактамаз проводили, выявляя синергизм между ЦРС, карбапенемами и ингибиторами, специфичными для различных видов бета-лактамаз (для БЛРС — клавулановая кислота, для AmpC — клоксациллин, для металло-бета-лактамаз (МБЛ) — дипиколиновая кислота, для КРС — борониновая кислота) с использованием наборов «ESBL + AmpC Screen ID Kit» и «KPC+MBL Confirm ID Kit» (Rosco Diagnostica, Дания). Детекцию генов бета-лактамаз проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием праймеров и флуоресцентно-меченых олигонуклеотидных зондов, описанных ранее, семейств СТХ-М (групп СТХ-М-1, СТХ-М-2, СТХ-М-9, СТХ-М-8/25), TEM, SHV, KPC, IMP, VIM, OXA-48, NDM [6, 9, 11]. Для проведения ПЦР в режиме реального времени использовали амплификатор с системой оптической детекции CFX 96 (BioRad, США) или RotorGene Q (QIAGEN, Германия). Для проведения реакции циклического секвенирования использовали наборы реагентов BigDye Terminator v1.1 (Applied Biosystems, США) и праймеры NDM-seq-F (CgC-ATT-AgC-CgC-TgC-ATT-gA) и NDM-seq-R (ggg-Cgg-AAT-ggC-TCA-TCA). Разделение меченых фрагментов ДНК осуществляли с помощью генетического анализатора ABI Prism 3500 (Applied Biosystems, США). Анализ нуклеотидных последовательностей осуществляли, используя программы, представленные в свободном доступе в Интернете, и проводили сравнение с последовательностями генов *bla*NDM-1,2...7, опубликованными в базе данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

## Результаты

За 5 месяцев 2012 г. в четырех странах в рамках проекта было выделено 13 130 штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae*. В семи стационарах Санкт-Петербурга из различного клинического материала было выделено 1135 штаммов *E. coli* (устойчивы к ЦРС — 23,1%) и 536 штаммов *K. pneumoniae* (устойчивы к ЦРС — 66,7%).

22 штамма *K. pneumoniae* дополнительно характеризовались устойчивостью к карбапенемам (4,1%).

### Механизмы устойчивости к БЛРС

В стационарах всех стран были выделены штаммы, устойчивые к ЦРС. Подтверждающие тесты (синергизм с клавулановой кислотой) показали, что устойчивость была обусловлена продукцией БЛРС. В Санкт-Петербурге доля устойчивых штаммов составляла: среди *E. coli* — 23% (от 7,8 до 50% в зависимости от профиля стационара), среди *K. pneumoniae* — 67% (от 25,4 до 88,4%) (рис. 1). Во всех странах устойчивость была обусловлена продукцией «классических» БЛРС семейства СТХ-М, которые относились к группам СТХ-М-1, СТХ-М-2, СТХ-М-9 и СТХ-М-8/25. У штаммов *K. pneumoniae* преобладала продукция СТХ-М-1: во всех странах доля таких штаммов превышала 80%. У штаммов *E. coli* в трех странах, включая Россию, преобладала продукция СТХ-М-1 (более 80%), в Литве — СТХ-М-1 (около 50%) и СТХ-М-9 (около 30%). В Санкт-Петербурге 85% штаммов *E. coli* и 97% штаммов *K. pneumoniae* продуцировали БЛРС СТХ-М-1. Кроме того, 13% штаммов *E. coli* продуцировали СТХ-М группы 9, и 2% штаммов *K. pneumoniae* — СТХ-М группы 2. Во всех странах выявлена незначительная доля штаммов, у которых устойчивость была обусловлена продукцией БЛРС, не относящихся к СТХ-М, SHV, TEM, которые не удалось идентифицировать на данном этапе работы (рис. 2 и 3). Географическое распространение штаммов, продуцирующих цефотаксимазы различных групп, показано на рис. 4.

### Механизмы устойчивости к карбапенемам

Штаммы, устойчивые к карбапенемам, во всех странах были выявлены только среди *K. pneumoniae* (137 штаммов). Для 22 штаммов, выделенных в Санкт-Петербурге в трех стационарах, метод MULDI-TOF MS показал, что при инкубации эртапенема с микробной суспензией, приготовленной из нечувствительных штаммов, препарат подвергался гидролизу. Этот факт свидетельствовал о том, что резистентность к карбапенемам у этих штаммов была обусловлена продукцией бета-лактамаз, разрушающих карбапенемы (карбапенемаз). У остальных 115 штаммов устойчивость к карбапенемам была обусловлена другими механизмами резистентности. Результаты фенотипических подтверждающих тестов (выявленный синергизм между меропенемом и дипикколиновой кислотой) у всех 22 штаммов свидетельствовали о том, что продуцируемые карбапенемазы относились к классу металло-бета-лактамаз.

Дальнейшие молекулярно-генетические исследования выявили у всех 22 штаммов гены *bla*NDM. Гены других карбапенемаз (OXA-48, KPC, VIM, GIM и IMP) обнаружены не были. Полученные сиквенсы полностью соответствовали гену *bla*NDM-1. Нуклеотидная последовательность одного из штаммов депонирована в GenBank (GenBank accession number BankIt160 1193 Seq1 KC534 856).

У всех 22 штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих NDM-1, зоны задержки роста вокруг дисков с имипенемом и меропенемом, а также МИК имипенема соответствовали категориям «устойчивый» или «промежуточный» согласно

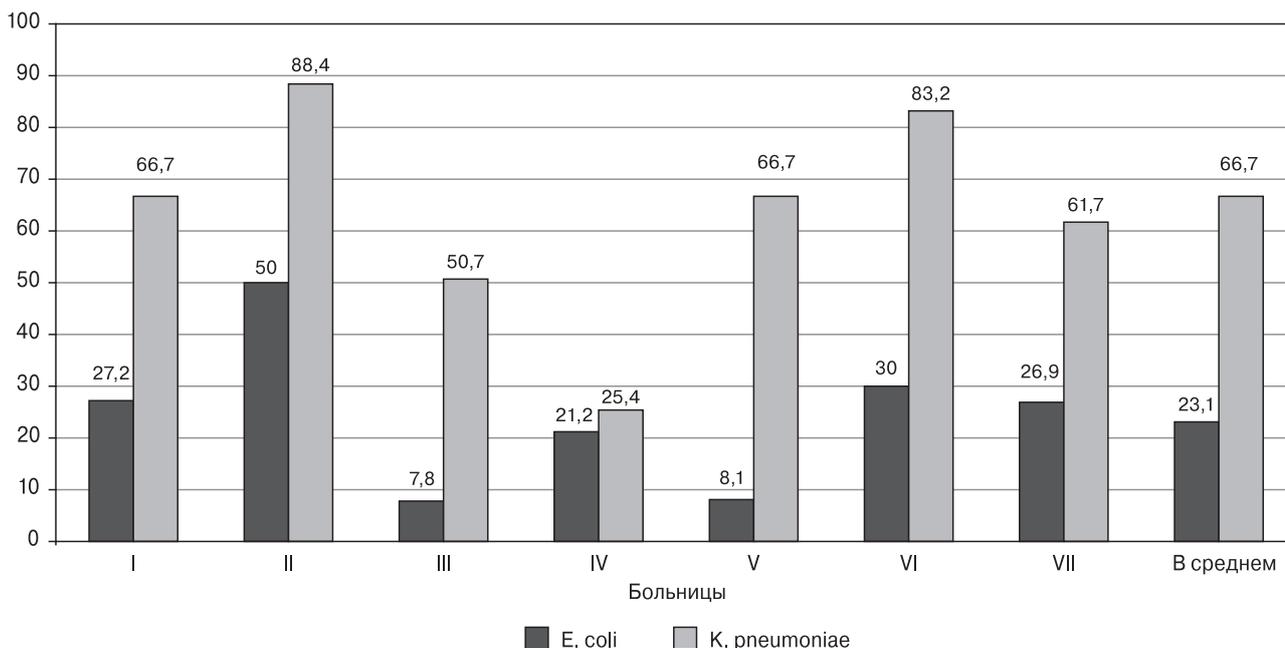


Рисунок 1. Доля штаммов (%) *E. coli* и *K. pneumoniae*, устойчивых к ЦРС, в стационарах Санкт-Петербурга, январь–май 2012 г.

критериям EUCAST ( $S \geq 22$  мм или  $\leq 2,0$  мг/л;  $R < 16$  мм или  $> 8,0$  мг/л).

Наиболее частой локализацией карбапенем-резистентных штаммов являлись нижние дыхательные (10 штаммов) и мочевыводящие пути (7 штаммов). Три штамма были выделены из раневого отделяемого и два штамма — из крови.

### Устойчивость к препаратам других групп

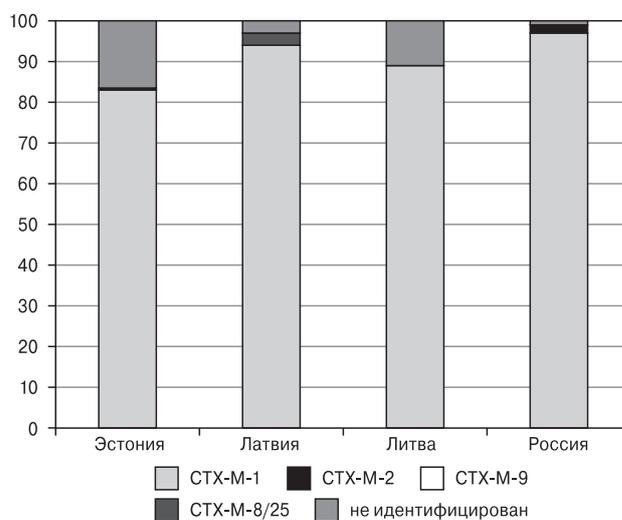
Все штаммы *K. pneumoniae* и *E. coli*, продуцирующие бета-лактамазы, включая МБЛ, характеризовались множественной устойчивостью к АМП других групп: фторхинолонам (ципрофлоксацину, офлоксацину), аминогликозидам (гентамицину, тобрамицину, амикацину), тетрациклину, хлорамфениколу и ко-тримоксазолу. Более 90% штаммов были чувствительны к нитрофуранам, 100% — к полимиксину.

### Обсуждение

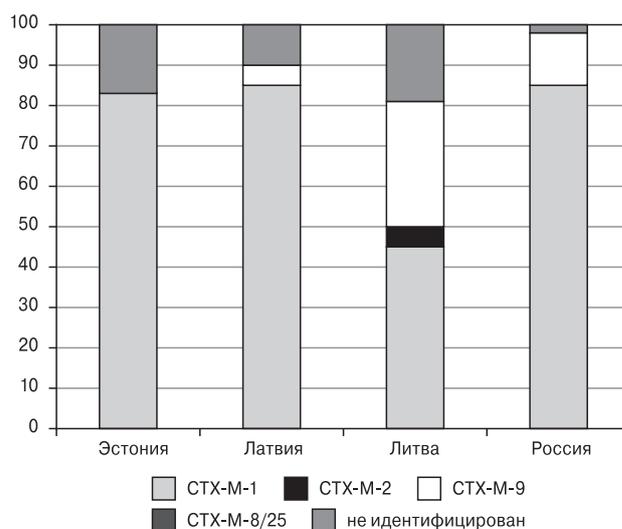
ЦРС и карбапенемы отличаются высокой активностью в отношении широкого спектра микроорганизмов. В условиях нарастания множественной устойчивости возбудителей, в том числе к бета-лактамам препаратам за счет продукции бета-лактамаз, карбапенемы остаются препаратами резерва для терапии тяжелых инфекций, особенно у пациентов в отделениях реанимаций и интенсивной терапии. Наиболее эпидемиологически значимым механизмом резистентности к бета-лактамам у энтеробактерий является продукция различных бета-лактамаз (в том числе БЛРС и МБЛ). В странах Евросоюза доля инвазивных штаммов (выделенных из крови и ликвора) *E. coli* и *K. pneumoniae*, продуцирующих БЛРС, колеблется. Наименьшие показатели отмечены в Швеции — 3 и 2,3% соответственно, наиболее высокие — на Кипре (36% *E. coli*) и в Болгарии (81% *K. pneumoniae*) [5]. В начале 90-х гг. XX века впервые были описаны цефотаксимазы семейства СТХ-М, которые в настоящее время распространены на всех континентах. Способностью продуцировать СТХ-М характеризуются энтеробактерии, вызывающие внутрибольничные и внебольничные инфекции, а также заболевания, передающиеся с пищевыми продуктами. Так, вспышка, возникшая в 16 странах Европы летом 2011 г., показала, что многие пищевые продукты могут быть активными факторами передачи пищевых инфекций, вызванных полирезистентными штаммами *E. coli*, способными продуцировать не только экзотоксины, вызывающие осложнения, угрожающие жизни, но и БЛРС семейства СТХ-М [1]. Исследования, периодически проводимые в РФ, показывают, что в стационарах различных городов распространенность штаммов *K. pneumoniae* и *E. coli*, устойчивых к ЦРС, в последние годы превышает 80% [2, 3].

Наши результаты также свидетельствуют, что в странах Балтийского региона, включая Россию (Санкт-Петербург), в стационарах широко распространены штаммы *K. pneumoniae* и *E. coli*, устойчивые к ЦРС за счет продукции БЛРС СТХ-М-1 класса.

Карбапенемы часто являются единственными АМП, которые сохраняют активность против полирезистентных грамотрицательных микроорганизмов, в частности продуцирующих БЛРС. Поэтому распространение штаммов, устойчивых к этой группе препаратов, представляет серьезную угрозу для здравоохранения. Наше исследование показало, что в четырех странах Балтийского региона выявлены



**Рисунок 2.** Доля штаммов (%) *K. pneumoniae*, продуцирующих БЛРС семейства СТХ-М различных групп, в странах Балтийского региона



**Рисунок 3.** Доля штаммов (%) *E. coli*, продуцирующих БЛРС семейства СТХ-М различных групп, в странах Балтийского региона

штаммы *K. pneumoniae*, резистентные к карбапенемам с различными механизмами резистентности. Штаммы, продуцирующие МБЛ, были выявлены только в России, в трех стационарах Санкт-Петербурга.

У энтеробактерий описана продукция различных классов МБЛ (VIM, IMP и др.). В 2008 г. в Великобритании были впервые выделены штаммы *K. pneumoniae* и *E. coli*, продуцирующие новый класс МБЛ, так называемые New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase (NDM) [12]. По данным Европейского Центра по Контролю Заболеваемости (ECDC) к марту 2011 г. в 13 странах Европы зарегистрировано 106 случаев выделения NDM-продуцирующих энтеробактерий (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter spp.*) [19]. В США к марту 2012 г. отмечено 13 случаев выделения NDM-1-продуцирующих энтеробактерий [7]. Также случаи выделения таких штаммов были отмечены в Австралии, Канаде, Японии, Кении [8, 13, 15, 16]. Эпидемиологические данные свидетельствуют о том, что большинство случаев инфекции, зарегистрированных в Европе, связаны с посещением стран Индийского субконтинента (Индия, Пакистан) или Балканского полуострова (Косово, Сербия, Босния, Герцеговина). В различных городах Индии NDM-продуцирующие штаммы составляют до 38,5% всех карбапенем-резистентных клинических изолятов *Enterobacteriaceae*, а также обнаружены в сточных и поверхностных водах [20]. В России был зарегистрирован лишь один случай инфекции, вызванный штаммом *E. coli*, про-

дуцирующим МБЛ группы VIM, а продукция NDM-1 выявлена только у штамма *Acinetobacter nosocomialis* [4, 17]. Продукция этого фермента штаммами *Enterobacteriaceae* ранее не описана.

В настоящее время выявлены 3 варианта NDM, возникших в результате точечных мутаций в гене NDM-1. NDM-2 была выявлена у штамма *A. baumannii*, выделенного от пациента, перевезенного из египетского госпиталя в стационар в Германии. В последствии клональное распространение *A. baumannii*, продуцирующего NDM-2, было описано в Израиле. NDM-4 был выявлен у штамма *E. coli* от пациента, госпитализированного в Индии, а также от пациента, поступившего в стационар Франции из Камеруна. Последний вариант, NDM-5, обнаружен у штамма *E. coli*, выделенного от пациента, который также в анамнезе имел случай госпитализации в Индии [10].

По сравнению с другими карбапенемазами, NDM обладает некоторыми особенностями, которые обуславливают ее особую значимость для здравоохранения. Гены *bla*NDM-1 выявлены у клонально неродственных штаммов, обнаружены в объектах окружающей среды (водопроводная вода и вода поверхностных водоемов) на Индийском субконтиненте. Наиболее часто гены *bla*NDM-1 приобретают штаммы *K. pneumoniae*, типичного нозокомиального возбудителя, а также штаммы *E. coli*, основного возбудителя внебольничных инфекций МВП. Источником выделения таких штаммов может быть значительная часть населения планеты,

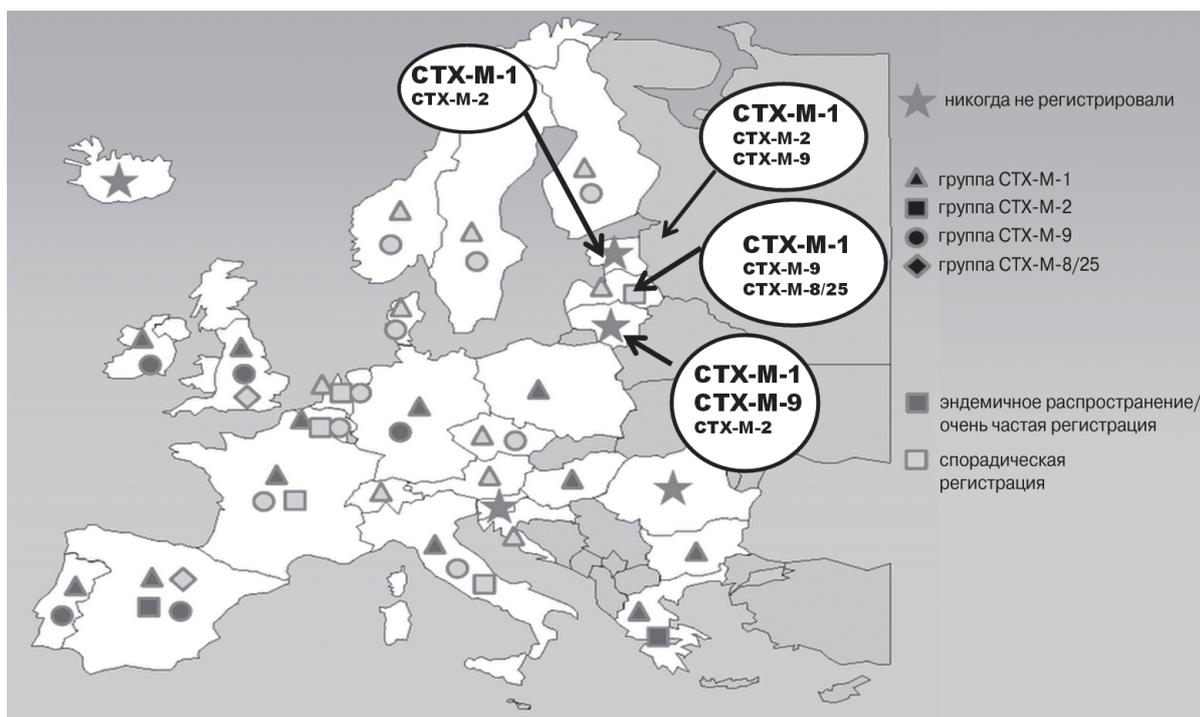


Рисунок 4. Группы БЛРС класса СТХ-М у штаммов *Enterobacteriaceae*, выделенных в стационарах стран Балтийского региона

поскольку в странах Индийского субконтинента проживает более 1,4 млрд человек. В некоторых регионах Пакистана до 20% населения могут являться носителями NDM-1-продуцирующих штаммов [14].

Штаммы энтеробактерий, устойчивые к карбапенемам за счет продукции NDM, выявляют обычными рутинными лабораторными методами, включая ДДМ или методы серийных разведений, с дальнейшим проведением различных подтверждающих тестов (модифицированный Hodge-тест, тесты синергизма с ЭДТА и др.). Широко распространенные автоматизированные системы (например, Vitek) также показывают хорошую чувствительность при выявлении устойчивости, обусловленной МБЛ, хотя и характеризуются низкой специфичностью при дифференциации различных видов карбапенемаз. Подтверждение продукции металло-бета-лактамазы класса NDM требует проведения ПЦР или ДНК-секвенирования, что возможно только в специализированных лабораториях.

Проведенные нами исследования показали, что ДДМ и E-тесты обладают достаточной чувствительностью для выявления штаммов, продуцирующих NDM. Зоны задержки роста вокруг дисков с имипенемом и меропенемом у всех 22 штаммов соответствовали категориям «устойчивый» или «промежуточный», при этом использование для скрининга двух препаратов из группы карбапенемов повышало вероятность выявления таких штаммов. Наши данные подтвердили, что большинство штаммов, продуцирующих NDM-1, резистентны практически ко всем АМП, используемым для лечения тяжелых инфекций. Полимиксин сохраняет активность *in vitro*, однако в последние годы этот препарат не используется широко в клинической практике, его клиническая эффективность при лечении инфекций, вызванных энтеробактериями, недостаточно доказана.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что в настоящее время для стационаров Санкт-Петербурга становится актуальной проблема циркуляции возбудителей, обладающих множественной устойчивостью к АМП, включая препараты резерва — карбапенемы. Причем такие штаммы встречаются не только среди *Pseudomonas spp.* и *Acinetobacter spp.*, что было описано ранее, но также впервые выявлены штаммы *K. pneumoniae*, характеризующиеся продукцией металло-бета-лактамазы NDM-1, первые находки которой описаны в мире относительно недавно.

В настоящее время в международных рекомендациях (EUCAST, CLSI) детекция специфического механизма резистентности (включая продукцию конкретной  $\beta$ -лактамазы — БЛРС, карбапенемазы КРС или МБЛ) не требуется для определения тактики лечения пациента,

поскольку пограничные концентрации для цефалоспоринов и карбапенемов в 2012 г. были пересмотрены в сторону ужесточения и строго ориентированы на достижение клинической эффективности antimicrobial терапии. Тем не менее, идентификация конкретного специфического фермента может быть полезна для проведения инфекционного контроля и эпидемиологических исследований.

Профилактика распространения штаммов-продуцентов карбапенемаз основана на раннем выявлении носителей таких штаммов в стационаре. Скринингу подлежат пациенты, которые были госпитализированы в одной стране, а затем переехали в другую страну, и пациенты из группы риска (госпитализированные в ОРИТ, перенесшие операцию по трансплантации органов и др.). В отношении таких пациентов должны применяться мероприятия, ограничивающие контакты с другими пациентами и медицинским персоналом до получения результатов лабораторного обследования. Для быстрого выявления таких штаммов разработаны и используются специальные среды: хромогенные и содержащие различные концентрации карбапенемов. Тем не менее, в настоящее время отсутствует универсальная среда, позволяющая с высокой чувствительностью и специфичностью выявлять штаммы, продуцирующие все виды карбапенемаз. Оснащение оборудованием для молекулярно-генетических исследований расширяет аналитические возможности лабораторий по детекции механизмов резистентности.

В разработке и осуществлении мер по сдерживанию резистентности к АМП штаммов микроорганизмов, вызывающих инфекционный процесс у пациентов, находящихся на стационарном лечении, должны принимать участие специалисты разного профиля: от главного врача стационара до санитарки. Меры по борьбе с резистентностью к АМП состоят из двух самостоятельных направлений: устранение факторов, способствующих селекции резистентных микроорганизмов и распространению резистентных микроорганизмов во внешней среде и восприимчивой популяции. Успешное решение этих задач в условиях стационаров требует знаний эпидемиологических, микробиологических, фармакодинамических и молекулярно-генетических особенностей формирования резистентности у конкретного штамма микроорганизма.

## Благодарность

Авторы статьи выражают благодарность BARN (Сети по надзору за антибиотикорезистентностью в странах Балтийского региона) за оказание финансовой и научной поддержки в ходе реализации проекта «Изучение эпидемиологии БЛРС-продуцирующих энтеробактерий в странах Балтийского региона».

## Список литературы

- Кафтырева Л.А., Егорова С.А., Макарова М.А., Забровская А.В., Матвеева З.Н., Сужаева Л.В., Артамонова Ю.А. Характеристика биологических свойств *E. coli* O104:H4 — возбудителя крупной пищевой вспышки, возникшей в Германии в мае 2011 г. // Клиническая лабораторная диагностика. — 2012. — № 1. — С. 44–46.
- Решедько Г.К., Шебников А.Г., Морозов М.В., Решедько Л.А. *Escherichia coli* как возбудитель нозокомиальных инфекций в ОРИТ // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2011. — Т. 13, № 4. — С. 314–321.
- Рябкова Е.Л., Иванчик Н.В., Сухорукова М.В., Шебников А.Г., Решедько Г.К. Резистентность нозокомиальных штаммов *Escherichia coli* в стационарах России // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2009. — Т. 11, № 2. — С. 161–169.
- Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Шевченко О.В. Распространенность и молекулярная эпидемиология грамотрицательных бактерий, продуцирующих металло-бета-лактамазы, в России, Беларуси и Казахстане // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2012. — Т. 14, № 2. — С. 132–152.
- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2011. Surveillance report <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2011.pdf>
- Birkett C.I., Ludlam H.A., Woodford N., Brown D.F.J., Brown N.M., Roberts M.T.M., Milner N., Curran M.D. Real-time TaqMan PCR for rapid detection and typing of genes encoding CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamases // *J. Medical Microbiol.* — 2007. — Vol. 56. — P. 52–55.
- Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae containing New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase in two patients — Rhode Island, March 2012. CDC Morbidity and Mortality Weekly Report. — 2012. — Vol. 61, N 24. — P. 446–448. — Режим доступа: [http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6124a3.htm?s\\_cid=mm6124a3\\_w](http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6124a3.htm?s_cid=mm6124a3_w).
- Chihara S., Okuzumi K., Yamamoto Y., Oikawa S., Hishinuma A. First case of New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase 1-producing *Escherichia coli* infection in Japan // *Clin. Infect. Dis.* — 2011. — Vol. 52, N 1. — P. 153–154.
- Danny C.T. Ong, Tse-Hsien Koh, Nur Syahidah, Prabha Krishnan, Thean Yen Tan. Rapid detection of the blaNDM-1 gene by real-time PCR // *J. Antimicrob. Chemother.* — 2011. — Vol. 66, N 7. — P. 1647–1649.
- Dortet L., Poirel L., Anguel N., Nordmann P. New Delhi metallo  $\beta$ -lactamase 4-producing *Escherichia coli* in Cameroon // *Emerg. Infect. Dis.* — 2012. — Vol. 18, N 9. — P. 1540–1542.
- Egorova S., Kaftyreva L., Grimont P.A.D., Weill F.-X. Prevalence and characterization of extended-spectrum cephalosporin-resistant nontyphoidal *Salmonella* isolates in adults in Saint Petersburg, Russia (2002–2005) // *Microb. Drug. Resist.* — 2007. — Vol. 13, N 2. — P. 102–107.
- Kumarasamy K.K., Toleman M.A., Walsh T.R., Bagaria J., Butt F., Balakrishnan R., Chaudhary U., Doumith M., Giske C.G., Irfan S., Krishnan P., Kumar A.V., Maharjan S., Mushtaq S., Noorie T., Paterson D.L., Pearson A., Perry C., Pike R., Rao B., Ray U., Sarma J.B., Sharma M., Sheridan E., Thirunarayan M.A., Turton J., Upadhyay S., Warner M., Welfare W., Livermore D.M., Woodford N. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study // *Lancet Infect. Dis.* — 2010. — Vol. 10, N 9. — P. 597–602.
- Mulvey M.R., Grant J.M., Plewes K., Roscoe D., Boyd D.A. New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*, Canada // *Emerg. Infect. Dis.* — 2011. — Vol. 17, N 1. — P. 103–106.
- Nordmann P., Naas T., Poirel L. Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae // *Emerg. Infect. Dis.* — 2011. — Vol. 17, N 10. — P. 1791–1798.
- Poirel L., Lagrutta E., Taylor P., Pham J., Nordmann P. Emergence of metallo- $\beta$ -lactamase NDM-1-producing multidrug-resistant *Escherichia coli* in Australia // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2010. — Vol. 54, N 11. — P. 4914–4916.
- Poirel L., Revathi G., Bernabeu S., Nordmann P. Detection of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Kenya // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2011. — Vol. 55, N 2. — P. 934–936.
- Shevchenko O.V., Mudrak D.Y., Skleenova E.Y., Kozyreva V.K., Ilina E.N., Ikryannikova L.N., Alexandrova I.A., Sidorenko S.V., Edelstein M.V. First detection of VIM-4 metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in Russia // *Clin. Microbiol. Infect.* — 2012. — Vol. 18. — P. 214–217.
- Sparbier K., Schubert S., Weller U., Boogen C., Kosztrzewa M. Matrix-assisted laser desorption ionization — time of flight mass spectrometry-based functional assay for rapid detection of resistance against  $\beta$ -lactam antibiotics // *J. Clin. Microbiol.* — 2012. — Vol. 50, N 3. — P. 927–937.
- Updated ECDC risk assessment on the spread of New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase and its variants within Europe. ECDC Technical report. ([http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1111\\_TER\\_Risk-assessment-NDM.pdf](http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1111_TER_Risk-assessment-NDM.pdf)).
- Walsh T.R., Weeks J., Livermore D.M., Toleman M.A. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study // *Lancet Infect. Dis.* — 2011. — Vol. 11, N 5. — P. 355–362.